

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Die dopaminerge Modulation
der durch elektrische Stimulation
bewirkten Vasopressinfreisetzung
aus isolierten Neurohypophysen der Ratte**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

Bernhard Trapp
aus St. Ingbert

Mainz ~~1983~~

1984



Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Die dopaminerge Modulation
der durch elektrische Stimulation
bewirkten Vasopressinfreisetzung
aus isolierten Neurohypophysen der Ratte**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

Bernhard Trapp
aus St. Ingbert

Mainz 1983

Dekan: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl

1. Gutachter: Prof. Dr. E. Muscholl

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Kilbinger

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 1. 1984

Meinen Eltern

Meine Eltern,

ich danke euch

1. für die Liebe

2. für die Unterstützung

3. für die Gebete und Fürbitten

4. für die Ratschläge

5. für die Hilfe

6. für die Geduld

7. für die Verzeihung

8. für die Hoffnung

Meine Eltern,

9. für die Liebe und Unterstützung

10. für die Gebete und Fürbitten

11. für die Ratschläge

12. für die Hilfe

13. für die Geduld

14. für die Verzeihung

15. für die Hoffnung

16. für die Liebe und Unterstützung

Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODEN	5
1. Versuchstiere	5
2. Inkubationsmedium	5
3. Präparation der Neurohypophysen	5
4. Inkubationsverfahren	7
5. Stimulation	8
6. Vasopressinbestimmung	9
7. Statistische Auswertung	11
8. Verwendete Substanzen	12
ERGEBNISSE	14
A. Zeitverlauf der Vasopressinfreisetzung während der Experimente, Erläuterung der Versuchsauswertung	14
B. Versuche mit Neurointermediärlappen weiblicher Tiere	17
I. Abhängigkeit der Vasopressinfreisetzung von der Reizfrequenz; Einfluß von Tetrodo- toxin; Vasopressingehalt der Organe	17

II. Modulation der Vasopressinfreisetzung

durch Pharmaka	19
1. Bromocriptin	19
2. SKF 82 526	21
3. Sulpirid	21
4. Flupenthixol	25
5. SKF 83 742	28
6. GBR 12 921	28
7. Guanethidin	30
8. Naloxon	30

C. Versuche mit Neurointermediärlappen

männlicher Tiere	34
------------------	----

I. Allgemeines	34
----------------	----

II. Modulation der Vasopressinfreisetzung

durch Pharmaka	34
1. Bromocriptin	34
2. Sulpirid	34
3. Naloxon	34

DISKUSSION 38

1. Stimulationsverfahren	38
--------------------------	----

2. Modulation der Vasopressinfreisetzung	
--	--

durch Dopamin-Agonisten und -Antagonisten	39
---	----

3. Versuch der Einflußnahme auf endogenes Dopamin	43
--	----

4. Versuche mit Neurointermediärlappen

männlicher Tiere

44

ZUSAMMENFASSUNG

49

LITERATURVERZEICHNIS

52

E I N L E I T U N G

Die Neurohypophyse ist das Speicher- und Freisetzungsorgan der Neurohormone Oxytocin und Vasopressin. Beide Octapeptide werden von magnocellulären Neuronen im Hypothalamus - vor allem im Nucleus supraopticus und paraventricularis - gebildet und gelangen innerhalb der Axone, die bestimmten Bahnen folgen (Fisher et al., 1979), zur Neurohypophyse. Die Axonendigungen sind kolbenartig aufgetrieben und haben Kontakt zu Blutkapillaren. Aktionspotentiale, die an den Zellkörpern der magnocellulären Neuronen entstehen und über die Axone bis in die Neurohypophyse ablaufen, lösen die Sekretion der Neurohormone aus. Dabei kommt dem durch die Membrandepolarisation hervorgerufenen Calciumeinstrom die elementare Vermittlerrolle in der elektro-sekretorischen Kopplung zu (Douglas und Poisner, 1964 a und b; Übersicht bei Poulain und Wakerley, 1982).

Histologische Arbeiten haben in der Pars neuralis und intermedia der Hypophyse monoaminhaltige Nervenfasern nachgewiesen, die ihren Ursprung im Nucleus arcuatus des Hypothalamus haben (Björklund et al., 1973). Bei mehreren Säugern ist Dopamin das vorherrschende Katecholamin in beiden Strukturen (Saavedra et al., 1975; Holzbauer et al., 1978). Bindungsstudien mit ^3H -Spiroperidol zeigten die Existenz von hochaffinen dopaminergen Bindungsstellen in der Neurohypophyse (Cronin und Weiner, 1979; Stefanini et al., 1980). Ahn et al. (1979) wiesen eine an einen Dopamin-

Rezeptor gekoppelte Adenylcyclase in der Neurohypophyse der Ratte nach.

Anhalt für eine funktionelle Bedeutung dieses dopaminergen Systems geben Arbeiten von Holzbauer et al. (1978, 1980) und Alper et al. (1980). Der Dopamingehalt und Dopaminsatz stiegen unter Bedingungen an, die bekannterweise die Vasopressinfreisetzung steigern.

Unter in vivo-Bedingungen wurden bezüglich des Einflusses von dopaminergen Substanzen auf die Vasopressinfreisetzung unterschiedliche Beobachtungen gemacht. Bridges et al.

(1976) beobachteten bei der Ratte nach intraventriculärer Injektion von Dopamin einen antidiuretischen Effekt, der als erhöhter Vasopressin-Plasmaspiegel interpretiert wurde.

Wolny et al. (1974) beschrieben nach methodisch ähnlichen Versuchen eine gesteigerte Diurese. Forsling und

Lightman (1979) beobachteten bei Versuchspersonen nach intravenöser Infusion von L-Dopa eine Abnahme des Vasopressin-Plasmaspiegels. Eine Studie mit dem Dopamin-Antagonisten Haloperidol (Kendler et al., 1978) konnte die

These der dopaminergen Modulation der Vasopressinfreisetzung nicht unterstützen. Die Unterschiedlichkeit dieser Ergebnisse beruht vielleicht auf komplexen Gegenregulationsmechanismen, die nicht zum hypothalamo-neurohypophysären System gehören und den unterschiedlichen Funktionszuständen des Vasopressinsystems.

Die vorliegende Arbeit enthält Ergebnisse von Versuchen, die an Präparationen durchgeführt wurden, die aus Pars

neuralis und intermedia der Hypophyse bestanden. Im folgenden wird das Präparat kurz als NIL (Neurointermediärlappen, englisch: neuro-intermediate lobe) bezeichnet.

Da frühere Arbeiten gezeigt hatten, daß die spontane Freisetzung von Vasopressin durch Dopamin-Agonisten nicht zu beeinflussen war (Bridges et al., 1976; Hisada et al., 1977; Wagner et al., 1978), wurde die durch elektrische Stimulation bewirkte Freisetzung untersucht.

Im hiesigen Institut durchgeführte Experimente (Racké et al., 1982 a) hatten gezeigt, daß die durch elektrische Stimulation des Hypophysenstiels bewirkte Vasopressinfreisetzung durch die selektiven Dopamin-Agonisten Apomorphin und Bromocriptin (Goldberg et al., 1978; Kebabian und Calne, 1979) moduliert werden kann. In diesem Zusammenhang galt es vor allem, die bei der Modulation beteiligten Dopamin-Rezeptoren näher zu charakterisieren.

Rezeptoren, welche bestimmte physiologische oder pharmakologische Funktionen vermitteln, können dadurch beschrieben oder klassifiziert werden, daß man eine Reihe von Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten mit bereits bekannter Spezifität einwirken läßt und die biologische Funktion mißt.

Es gibt zahlreiche Hinweise für die Existenz von mindestens zwei verschiedenen Dopamin-Rezeptoren (Spano et al., 1979; Kebabian und Calne, 1979; Kebabian und Cote, 1981). Der eine Rezeptor ist positiv an die Adenylcyclase gekoppelt (D1-Rezeptor), während der andere keine Steigerung der c-AMP-Bildung vermittelt (D2-Rezeptor).

In der vorliegenden Arbeit wurde SKF 82 526 als potenter Dopamin-Agonist am D1-Rezeptor (Weinstock et al., 1980) verwandt. Die durch SKF 82 526 erzeugten Effekte wurden durch die Kombination mit Dopamin-Antagonisten näher untersucht. Sulpirid wurde als selektiver D2-Rezeptor-Antagonist (Spano et al., 1979; Keabian und Cote, 1981) und Flupenthixol als Dopamin-Antagonist mit hoher Affinität zum D1-Rezeptor (Iversen et al., 1976; Cross und Owen, 1980) eingesetzt. Ferner wurde der Dopamin-Antagonist SKF 83 742 (Kaiser et al., 1980) getestet. Schließlich wurde untersucht, ob eine Hemmung der Aminfreisetzung (mit Guanethidin) oder eine Hemmung der Wiederaufnahme von Dopamin in das Neuron (mit GBR 12 921) einen Einfluß auf die Vasopressinfreisetzung besitzt. Die chemische Zusammensetzung von SKF 82 526, SKF 83 742 und GBR 12 921 ist in "Methoden", Abschnitt 8, angegeben.

1. Versuchstiere

Die Versuche wurden an isolierten Neurohypophysen weiblicher Sprague-Dawley-Ratten von 160 - 190 g Gewicht durchgeführt. Zu einigen Versuchsserien wurden auch männliche Sprague-Dawley-Ratten verwendet, die 180 - 240 g wogen. Alle Tiere wurden von der "Versuchstierzucht Charles River-Wiga" (Sulzfeld) bezogen und verbrachten nach dem Transport mindestens eine Woche im hiesigen Tierstall bei freiem Zugang zu Futter und Wasser.

2. Inkubationsmedium

Die Organe wurden in modifizierter Krebslösung folgender Zusammensetzung inkubiert (mmol/l): NaCl 118,5; KCl 4,7; CaCl_2 1,25; MgSO_4 1,18; KH_2PO_4 1,18; NaHCO_3 24,9; Glucose 11,1.

Die Osmolarität der Lösung wurde im Versuchszeitraum mehrfach überprüft. Sie betrug 292 ± 2 mosmol/kg H_2O (n=8).

3. Präparation der Neurohypophysen

Alle Tiere wurden zwischen 7.30 h und 15.00 h durch Dekapitation getötet. Nach Entfernen des Kopffells wurde der Kopf mit Stecknadeln auf einem Korken fixiert und der Schädel eröffnet. Das Gehirn wurde weitgehend abgetragen und nur die Hypothalamus-Hypophysen-Region auf der Schädelbasis be-

lassen. Die weitere Präparation erfolgte unter einem Zeiss-Stereomikroskop bei zehnfacher Vergrößerung. Dabei wurde das Präparat mehrmals mit Krebslösung befeuchtet. Der Hypothalamus wurde zunächst verkleinert und nach rostral umgeklappt. Dadurch bestand freier Zugang zu Adeno- und Neurohypophyse; der Hypophysenstiel lag frei. Die gemeinsame Kapsel von Adeno- und Neurohypophyse wurde entfernt, wobei im Bereich des Hypophysenstiels besonders vorsichtig manipuliert wurde. Anschließend ließ sich die Neurohypophyse gut mit zwei Präpariernadeln von der Adenohypophyse trennen. Die Pars intermedia verblieb an der Neurohypophyse. Das Präparat wird daher als NIL (siehe Einleitung) bezeichnet.

Der Hypothalamusrest wurde nach Abschneiden der Meningen vorsichtig von der Schädelbasis abgehoben und samt anhängendem NIL in eine mit Krebslösung gefüllte Petrischale gebracht. Dort erfolgte die weitere Präparation.

Der NIL wurde mit einer feinen Schere von seinem distalen Ende bis zur Mitte eingeschnitten, um während der Inkubation die Diffusion zu erleichtern. Der Hypothalamusrest wurde dann bis auf einen kleinen Teil oberhalb der Eminentia mediana abgetragen, der Hypophysenstiel dicht unterhalb der Eminentia mediana an einer Platinklemmelektrode fixiert und schließlich alles Gewebe oberhalb der Klemmelektrode entfernt.

Klemmelektrode und Gegenelektrode waren an einem Kunststoffstab fixiert und konnten mit diesem in das Inkuba-

tionsbad getaucht werden. Die Klemmelektrode war so beschaffen, daß der NIL während der Inkubation frei in der Flüssigkeit hing. Etwa 10 - 13 min nach dem Tod eines Tieres wurde mit der Inkubation begonnen.

4. Inkubationsverfahren

Die Inkubation erfolgte bei 37° C in Glasröhrchen, die 1 ml Krebslösung enthielten. Die Inkubationslösung wurde mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begast. Es wurde darauf geachtet, daß die Gasblasen das Präparat nicht mechanisch schädigten. Eine halbstündige Vorbegasung sicherte, daß beim Einbringen des NIL die Sättigung der Lösung erreicht war und sich der pH auf 7,4 eingestellt hatte. Die Inkubationsröhrchen wurden alle 15 min gewechselt. Nach 45 min Präinkubation begann das Versuchsprotokoll. In dessen Verlauf wurde jeder NIL einzeln in acht Inkubationsbädern für insgesamt 2 h inkubiert. Das erste Inkubationsbad diente der Bestimmung der Ruheabgabe. Anschließend erfolgte die erste Stimulation (S1) und 60 min später die zweite Stimulation (S2). Der Zeitablauf der Experimente ist in Abb. 1 dargestellt.

Die zu prüfenden Pharmaka wurden dem Inkubationsmedium 15 min vor Beginn von S2 bis zum Versuchsende zugesetzt. Unmittelbar nach Herausnahme des NIL aus dem Inkubationsbad wurde aus diesem eine Probe entnommen. 0,4 ml Inkubat wurden mit 0,1 ml kalter 1 N Essigsäure in vorgekühlten Kunststoffröhrchen gemischt und bei -20° C gefroren außer-

wahrt.

Bei einigen Versuchen wurde der NIL nach Abschluß der Inkubation homogenisiert und das Vasopressin mit 1 ml 0,2 N Essigsäure 24 h bei 40° C extrahiert. Aus dem Extrakt wurde der Vasopressingehalt des Organs bestimmt.

5. Stimulation

Während der elektrischen Stimulation hing der NIL dicht unter der Oberfläche des Inkubationsbades, so daß der Hypophysenstiel gerade noch von Flüssigkeit bedeckt war. Die Klemmelektrode tauchte knapp ein, die indifferente Elektrode lag in der Flüssigkeit und berührte den NIL nicht. Ein großer Teil des Reizstromes floß bei der beschriebenen Anordnung unter Umgehung des Hypophysenstiels durch die Inkubationslösung. Deshalb mußten Reizspannung und damit Reizstrom relativ hoch gewählt werden. Die Methode, den NIL etwas über die Flüssigkeitsoberfläche zu ziehen (Douglas und Poisner, 1964 a), läßt einen höheren Anteil des Reizstromes durch den Hypophysenstiel fließen. Diese Methode ist jedoch für den empfindlichen Stiel weniger schonend und schwerer zu handhaben. Sie wurde deshalb nicht angewandt.

Für die Stimulation wurde ein Grass-Reizgerät (Modell S5 E) verwendet. Folgende Reizparameter wurden gewählt: 80 V; biphasige Impulse von 0,2 ms Dauer; 15 Hz (bei einigen Versuchen 10 Hz); 10 s Reizphasen gefolgt von 10 s Pause wurden für eine Gesamtdauer von 10 min angewandt. Diese pha-

sische Stimulation entspricht den physiologischen Bedingungen eher als eine kontinuierliche Stimulation (Dutton und Dyball, 1979). Der Reizstrom betrug 70 - 85 mA. Er wurde als Spannungsabfall über einen in den Stromkreis geschalteten Widerstand mit einem Oszilloskop bestimmt. Bei den beschriebenen Reizparametern sollte Vasopressin möglichst nur durch im Hypophysenstiel fortgeleitete Aktionspotentiale freigesetzt werden. Um dies zu überprüfen, wurden bei einigen Versuchen fortgeleitete Aktionspotentiale durch Tetrodotoxin (TTX) verhindert. TTX $1 \mu\text{M}$ wurde der Inkubationslösung von Beginn der Präinkubation an zugesetzt. 30 min nach Beginn von SI waren diese Versuche abgeschlossen, so daß nur drei Proben gewonnen wurden.

6. Vasopressinbestimmung

Die Bestimmung des Vasopressingehalts der Proben erfolgte mit einem Radioimmunassay (RIA), der auf der von Husain et al. (1973) beschriebenen Methode basierte, mit Kaninchen-Antikörper gegen Vasopressin, ^{125}J -Arginin-Vasopressin (NEN) und synthetischem Arginin-Vasopressin (Serva, Sigma) als Standard.

Die Assayprozedur in Kürze: 300 μl Assaypuffer (0,05 M Phosphatpuffer pH 7,4, der EDTA 1 mM, L-Cystein 200 nM und Rinderserumalbumin 1,25 mg/ml enthielt), 100 μl von den mit Assaypuffer verdünnten (5-140fach) Proben oder 100 μl Assaypuffer, der Standard-Arginin-Vasopressin enthielt, wurden in Polystyrolröhrchen pipettiert. Ebenfalls

in Assaynuffer verdünnt wurden 50 μ l einer Antikörperlösung und 50 μ l ^{125}J -Arginin-Vasopressinlösung (5000 - 6000 cpm) zugegeben. Danach wurde bei 4° C für 48 h inkubiert. Alle Proben wurden doppelt bestimmt.

Nach der Inkubation wurde das gebundene vom ungebundenen Vasopressin nach Zugabe von 50 μ l 2%-iger γ -Globulinlösung mit 1 ml 20%-iger Polyäthylenglycollösung getrennt. Danach wurden die Röhrchen 20 min bei Raumtemperatur mit 1700 x g zentrifugiert, die Überstände abgesaugt und die Präzipitate in einem Packard- γ -Zähler je 3 min gezählt.

Zwei Röhrchen enthielten nur markiertes Vasopressin und weder Antikörper noch unmarkiertes Vasopressin. Die Radioaktivität in den Präzipitaten dieser Röhrchen entsprach der unspezifischen Sedimentation. Diese betrug etwa 5 % der eingesetzten Aktivität und wurde von den in allen übrigen Röhrchen gemessenen Aktivitäten subtrahiert.

Zwei andere Röhrchen waren mit Antikörper und markiertem, aber ohne unmarkiertes Vasopressin angelegt. Hier wurde der Maximalwert B_0 der durch Antikörperbindung gefüllten Aktivität bestimmt. B_0 betrug etwa 40 - 50 % der eingesetzten Aktivität. Alle anderen Meßwerte wurden zu B_0 ins Verhältnis gesetzt (B/B_0).

Der Vasopressingehalt der Röhrchen wurde graphisch oder mit einem Computernprogramm durch Vergleich mit der Standardkurve ermittelt. Diese war im Bereich $0,20 < B/B_0 < 0,75$ zuverlässig. In jedem RIA wurde eine Probe mitbestimmt, die einem größeren Pool entnommen war. Der Mittelwert von 29 Bestimmungen der Poolprobe betrug $2,34 \pm 0,04$ mE Vaso-

pressin, was einer Interassavvariabilität von 9,4 6'-% entspricht. Um die Spezifität der Bestimmungsmethode für Vasopressin zu untersuchen, wurde eine Standardkurve mit Oxytocin (0,1 μ E - 1 E) angelegt und mitbestimmt. Die Kreuzreaktivität des Antikörpers mit Oxytocin war geringer als 0,001 %, wenn die Konzentrationen von Vasopressin und Oxytocin verglichen wurden, die einen Quotienten von $B/B_0 < 0,75$ ergaben.

Eine Beeinflussung des RIA durch die verwendeten Pharmaka wurde für jede Substanz ausgeschlossen.

7. Statistische Auswertung

Es werden jeweils die Mittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (mittlerer Fehler des Mittelwertes) von n Experimenten angegeben. Signifikante Unterschiede wurden mit dem Student-t-Test ermittelt. Zum Vergleich einer Kontrollgruppe mit mehreren Versuchsgruppen wurden die modifizierten Tafeln für t-Werte nach Dunnett (1964) benutzt. α -Werte $< 0,05$ wurden als signifikant angesehen. Beim Erstellen einer Konzentrationswirkungsbeziehung wurden nur für die Maximal- und Minimalwerte Vergleiche angestellt.

Bei einer Versuchsgruppe wurde eine lineare Regression und Korrelation berechnet. Der Zufallhöchstwert für den Korrelationskoeffizienten wurde in einer Tafel von Weber (1964) abgelesen.

8. Verwendete Substanzen

Bromocriptin-methansulfonat (Sandoz, Nürnberg)

Flupenthixol-dihydrochlorid (Troponwerke, Köln)

GBR 12 921 = 1-[2-(Diphenylmethoxy)äthyl]-4-(3-phenyl-2-propenyl)piperazin (Gist-Brocades, Haarlem)

Guanethidin-sulfat (CIBA, Wehr)

Naloxon-hydrochlorid (ENDO-Laboratories, New York)

SKF 82 526 = 6-Chlor-7,8-dihydroxy-1-(p-hydroxyphenyl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzazepin-methansulfonat (Smith, Kline & French, Philadelphia)

SKF 83 742 = 7,8-Dihydroxy-3-methyl-6-phenylthio-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepin-hydrochlorid (Smith, Kline & French, Philadelphia)

Tetrodotoxin (Sigma, München)

Synthetisches Arginin-Vasopressin (Serva, Heidelberg)

Synthetisches Arginin-Vasopressin (Sigma, München)

Kaninchen-Antikörper gegen Arginin-Vasopressin (Calbiochem-Behringwerke, Gießen)

¹²⁵J-markiertes Arginin-Vasopressin (NEN, Dreieich)

Oxytocin (Sandoz, Nürnberg)

Polyäthylenglycol 6000 (Serva, Heidelberg)

γ-Globulin entsprechend Cohnfraktion II (Serva, Heidelberg)

Alle hier nicht genannten Substanzen lagen in p.A.-Qualität vor.

Es wurde nur Wasser folgender Qualität verwendet: Entmineralisiertes Wasser wurde mit Aktivkohle aufgeschüttelt, um

organische Bestandteile zu entfernen. Danach wurde es zweifach filtriert und schließlich destilliert.

ERGEBNISSE

A. Zeitverlauf der Vasopressinfreisetzung während der Experimente, Erläuterung der Versuchsauswertung

Am Beispiel einer Kontrollgruppe ($n=12$) mit Neurointermediärappen (NIL) weiblicher Tiere und 15 Hz Reizfrequenz wird das Versuchsprotokoll und der Zeitverlauf der Vasopressinfreisetzung im folgenden beschrieben und in Abb. 1 dargestellt.

Nach der 45-minütigen Präinkubationsperiode betrug die Abgabe von Vasopressin aus dem NIL in die Badflüssigkeit (= Ruheabgabe) $87 \pm 10 \mu\text{E}/15 \text{ min}$ ($n = 12$). In der während der ersten Stimulation (S1) gesammelten Probe waren $2,50 \pm 0,18 \text{ mE}$ Vasopressin enthalten. Auch die folgenden beiden Proben enthielten wegen der verzögerten Abgabe des Hormons in das Inkubationsmedium erhöhte Vasopressinkonzentrationen.

Vor der zweiten Stimulation (S2) betrug die Ruheabgabe $79 \pm 9 \mu\text{E}$. Die Vasopressinfreisetzung nach S2 war in der Stimulationsprobe auf $1,86 \pm 0,13 \text{ mE}$ gesteigert und der zeitliche Verlauf der Freisetzung ähnelte dem nach S1 (siehe Abb. 1).

Für jede der beiden Stimulationen wurde nach Subtraktion der unmittelbar vor Stimulationsbeginn gemessenen Ruheabgabe die gesamte durch S1 bzw. S2 bewirkte Vasopressinfreisetzung berechnet. Anschließend wurde der Quotient "durch S2 bewirkte Freisetzung/durch S1 bewirkte Freisetzung" (kurz S2/S1) gebildet.

Im vorliegenden Beispiel wurden durch S1 durchschnittlich $3,35 \pm 0,31$ mE Vasopressin ($n = 12$) freigesetzt. Der Mittelwert aller Quotienten S2/S1 betrug $0,70 \pm 0,03$ ($n = 12$), wobei die Einzelwerte zwischen 0,58 und 0,83 variierten. Bei allen Kontrollgruppen war die durch S2 bewirkte Freisetzung signifikant geringer als die durch S1 bewirkte Freisetzung. Die Mittelwerte von S2/S1 schwankten bei den verschiedenen Kontrollgruppen zwischen 0,65 und 0,71.

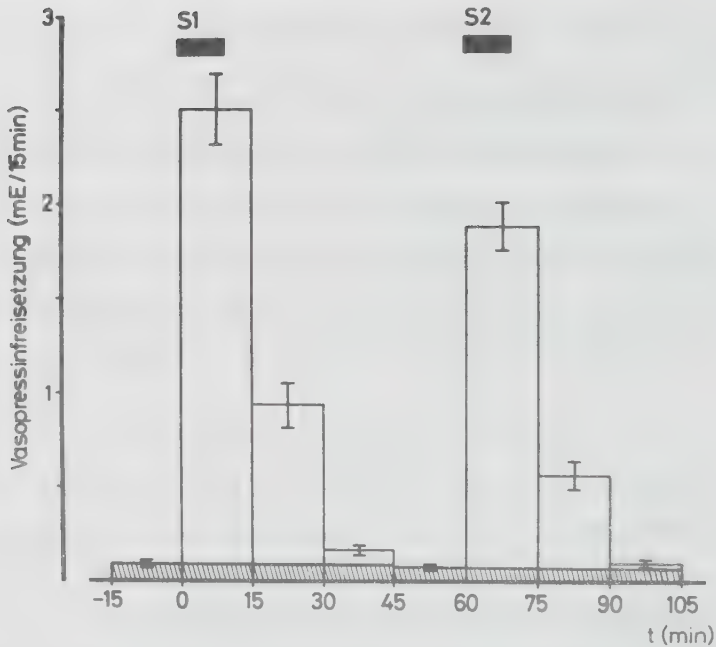


Abb. 1

Zeitverlauf der Vasopressinfreisetzung aus dem elektrisch stimulierten NIL weiblicher Ratten in das Inkubationsmedium.

Das Präparat wurde 45 min präinkubiert, bevor alle 15 min Proben gesammelt wurden (-15 min bis 105 min). Der Hypophysenstiel war an einer Platinklemmelektrode fixiert und wurde während S1 und S2 elektrisch stimuliert. Reizfrequenz: 15 Hz; weitere Stimulationsparameter siehe "Methoden". Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung / 15 min; Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von 12 Versuchen, von denen jeder an einem NIL ausgeführt wurde. Ruheabgabe schraffiert.

B. Versuche mit Neurointermediärlappen weiblicher Tiere

I. Abhängigkeit der Vasopressinfreisetzung von der Reizfrequenz; Einfluß von Tetrodotoxin; Vasopressingehalt der Organe

Es wurden bei sonst unveränderten Stimulationsparametern (0,2 ms; 80 V; 10 s Reizphasen gefolgt von 10 s Pause für insgesamt 10 min) Versuche mit 10 Hz oder 15 Hz Reizfrequenz durchgeführt. In der Tabelle sind die Ergebnisse, die mit den verschiedenen Frequenzen erzielt wurden, einander gegenübergestellt.

Bei den Versuchen mit 10 Hz Reizfrequenz wurden durch S1 $1,00 \pm 0,15$ mE Vasopressin ($n = 13$) freigesetzt. Die Erhöhung der Reizfrequenz auf 15 Hz steigerte die Vasopressinfreisetzung beträchtlich ($3,43 \pm 0,09$ mE, $n = 183$). Die Freisetzung pro Impuls war bei einer Reizfrequenz von 15 Hz mehr als doppelt so hoch wie bei einer Reizfrequenz von 10 Hz. Der Quotient S2/S1 lag bei den Kontrollversuchen unabhängig von der Reizfrequenz im gleichen Bereich (siehe Tabelle). Die Versuche, bei denen eine Reizfrequenz von 10 Hz angewandt wurde, waren wegen der relativ geringen Vasopressinfreisetzung sehr artefaktanfällig. Aus diesem Grunde schienen sie ungeeignet, eine eventuelle Modulation der Vasopressinfreisetzung nachzuweisen und wurden aufgegeben.

Die Tabelle zeigt auch den Einfluß von Tetrodotoxin (TTX) auf die Vasopressinfreisetzung. In Anwesenheit von TTX $1 \mu\text{M}$

Reizfrequenz	10 Hz	15 Hz
S1	$1,00 \pm 0,15^{\star}$	$3,43 \pm 0,09^{\star\star}$
n	13	183
S1 (TTX 1 μ M)	-	$0,045 \pm 0,02$
n	-	3
S1/1000 Impulse	$0,33 \pm 0,05^{\star}$	$0,77 \pm 0,02$
n	13	183
S2/S1	$0,73 \pm 0,15$	$0,70 \pm 0,03$
n	4	12

Tabelle

Vasopressinfreisetzung aus dem NIL weiblicher Ratten.

Bei sonst unveränderten Stimulationsparametern (0,2 ms; 80 V; 10 s Reizphase gefolgt von 10 s Pause für insgesamt 10 min; S2 60 min nach S1) wurde eine Reizfrequenz von 10 Hz oder 15 Hz angewandt. Mittelwerte in mE $\pm$ s $\bar{x}$ von n Versuchen. S2/S1 jeweils für eine Gruppe von Kontrollversuchen.

$\star$ Signifikanter Unterschied ($\alpha < 0,001$) zum entsprechenden Wert mit 15 Hz Reizfrequenz.

$\star\star$ Signifikanter Unterschied ($\alpha < 0,001$) zur durch S1 bewirkten Freisetzung in Anwesenheit von TTX (Zugabe 60 min vor Beginn von S1).

im Inkubationsmedium von Beginn der Präinkubation (60 Min vor S1) bis zum Schluß der Sammelperiode nach S1 war die Vasopressinfreisetzung durch die elektrische Stimulation nicht zu steigern.

Wie im methodischen Teil beschrieben, wurde in einigen Fällen der Vasopressingehalt der Organe nach Abschluß der Versuche (Reizfrequenz 15 Hz) bestimmt. Er betrug 173 ± 13 mE/Organ ($n = 7$). Bei diesen Versuchen betrug die durch S1 bewirkte Vasopressinfreisetzung $2,1 \pm 0,3$ % des Vasopressingehalts, der nach Abschluß der Versuche bestimmt wurde.

II. Modulation der Vasopressinfreisetzung durch Pharmaka

Bei allen Versuchen wurde eine Reizfrequenz von 15 Hz angewandt. Keine der getesteten Substanzen veränderte die Vasopressinruheabgabe.

1. Bromocriptin

Im gleichen Labor durchgeführte Experimente hatten mit etwas anderen Reizparametern eine Hemmung der durch elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung durch Bromocriptin nachgewiesen (Racké et al., 1982 a). Um eine Vergleichsmöglichkeit zu schaffen, wurde der Effekt von Bromocriptin unter meinen Bedingungen geprüft.

Abb. 2 zeigt, daß Bromocriptin $3 \mu\text{M}$ eine 34%-ige Hemmung der Vasopressinfreisetzung im Vergleich zur Kontrollgruppe bewirkte.

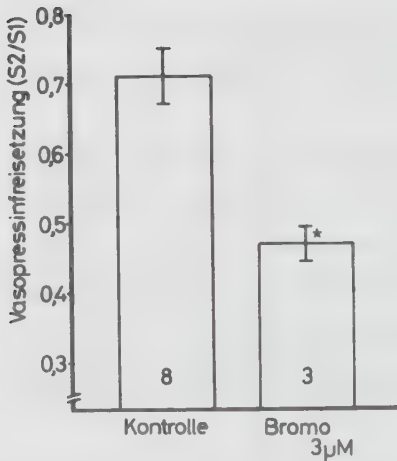


Abb. 2

Einfluß von Bromocriptin (Bromo) auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Es wurden zwei Stimulationen im Abstand von 60 min durchgeführt. Bromocriptin wurde dem Inkubationsmedium 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation zugesetzt.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als Quotient $S2/S1$.

Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($\alpha < 0,05$).

2. SKF 82 526

Die Substanz SKF 82 526 ist ein starker Dopamin-Agonist, auch an der Dopamin-Rezeptor-gekoppelten Adenylcyclase (Weinstock et al., 1980).

Die Konzentrationswirkungskurve von SKF 82 526 (Abb. 3, offene Kreise) zeigt einen biphasigen Verlauf:

SKF 82 526 1 nM veränderte die Vasonpressinfreisetzung nicht. Durch Steigerung der Konzentration wurde der Quotient S2/S1 zunächst kleiner. Bei einer Konzentration von 30 nM resultierte eine 29%-ige Hemmung der Vasonpressinfreisetzung. Nach weiterer Erhöhung der Konzentration stieg die Kurve steil an. SKF 82 526 1 μ M steigerte die Vasonpressinfreisetzung im Vergleich zur Kontrolle zum 27 %. Bei 10 μ M wurde dieser Effekt nicht mehr größer. Die Ergebnisse der Versuche mit SKF 82 526 führten zu der Vermutung, daß die Substanz konzentrationsabhängig zwei verschiedene Dopamin-Rezeptoren, eventuell D1- und D2-Rezeptoren (Kebabian und Cote, 1981) erregt, die ihrerseits die Vasonpressinfreisetzung in entgegengesetzter Weise modulieren. Um dies zu klären, wurde im folgenden versucht, jeden der beiden Effekte durch selektive Antagonisten aufzuheben.

3. Sulpirid

Sulpirid, ein selektiver Antagonist am nicht an die Adenylcyclase gekoppelten D2-Rezeptor (Spano et al., 1979; Kebabian und Cote, 1981) wurde in vier verschiedenen Konzentra-

tionen getestet (Abb. 4).

Sulpirid 1 nM hatte keinen Einfluß auf die Vasopressinfreisetzung. Sulpirid 10 nM bis 1 μ M steigerte die Freisetzung um 20%. Da der Effekt bei einer Konzentration von 10 nM schon maximal war ($0,89 \pm 0,10$, $n=5$), sind in Abb. 4 die Ergebnisse der Konzentrationen 10 nM, 100 nM und 1 μ M zusammengefaßt.

Die Steigerung der Vasopressinfreisetzung durch einen Antagonisten zeigt, daß eine Modulation durch endogenes Dopamin vorhanden sein muß.

In Anwesenheit von Sulpirid 100 nM (Abb. 3, geschlossene Kreise) war durch SKF 82 526 (1 nM bis 10 μ M) keine Hemmung der Vasopressinfreisetzung zu beobachten. Der niedrigste Wert ($0,72 \pm 0,04$, $n = 6$) wurde bei SKF 82 526 1 μ M beobachtet. Dieser Wert entsprach der Vasopressinfreisetzung in Kontrollversuchen. Sulpirid 100 nM antagonisierte somit auch die Steigerung der Vasopressinfreisetzung durch SKF 82 526. Ob letzteres auf einem kompetitiven Antagonismus beruht, sollte überprüft werden. Zunächst wurde die Konzentration von SKF 82 526 erhöht. SKF 82 526 10 μ M in Kombination mit Sulpirid 100 nM ergab einen Wert S2/S1, der oberhalb des Kontrollbereiches und sogar höher als der mit SKF 82 526 10 μ M allein erzielte Wert lag (beides nicht signifikant). Anschließend wurde die Antagonistenkonzentration gesteigert. Sulpirid 1 μ M wurde mit SKF 82 526 30 nM und 1 μ M kombiniert (Abb. 3, Quadrate). Es ließ sich die Antagonisierung der inhibitorischen, nicht aber der stimu-

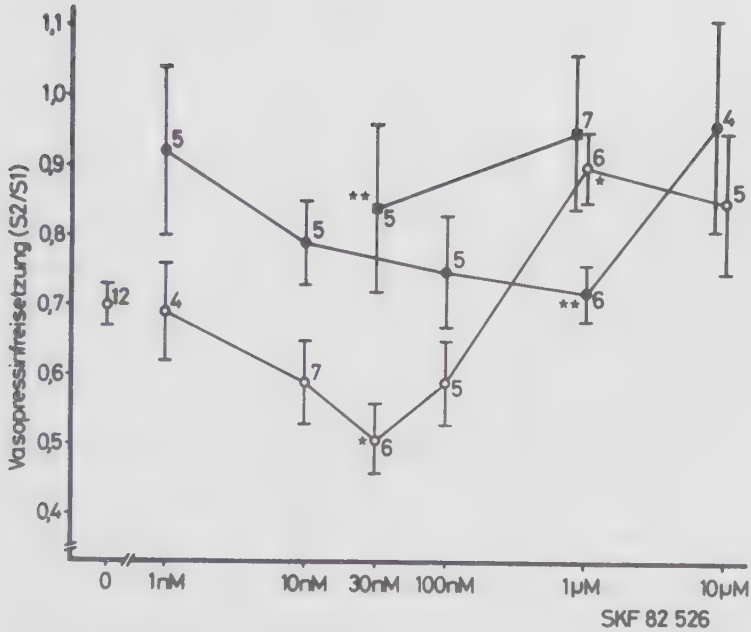


Abb. 3

Einfluß von SKF 82 526 allein (offene Kreise) und in Kombination mit Sulpirid 100 nM (geschlossene Kreise) oder 1 µM (Quadrate) auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung. S2 60 min nach S1. Zugabe aller Substanzen 15 min vor Beginn von S2.

Ordinate: Vasopressinfreisetzung als Quotient S2/S1. Mittelwerte $\pm$ $s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

Abzisse: Molare Konzentration von SKF 82 526

- ★ Signifikanter Unterschied ($\alpha < 0,05$) zur Kontrolle
- ★★ Signifikanter Unterschied ($\alpha < 0,05$) zum entsprechenden Wert, der mit der gleichen Konzentration von SKF 82 526 in Abwesenheit von Sulpirid beobachtet wurde.

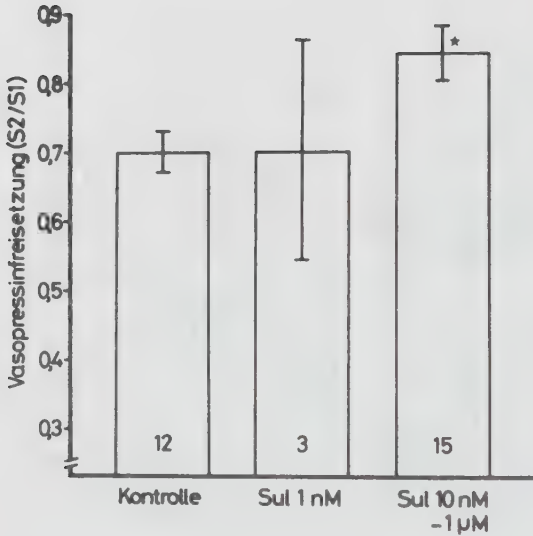


Abb. 4

Einfluß von Sulpirid (Sul) auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Es wurden zwei Stimulationen im Abstand von 60 min durchgeführt und Sulpirid 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation dem Inkubationsmedium zugesetzt.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als Quotient $S2/S1$. Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikant ($\alpha < 0,05$) verschieden vom Kontrollwert.

latorischen Komponente von SKF 82 526 beobachten.

4. Flupenthixol

Flupenthixol ist ein Dopamin-Antagonist, der eine hohe Affinität zum Adenylcyclase-gekoppelten D₁-Rezeptor besitzt (Iversen et al., 1976; Cross und Owen, 1980).

Flupenthixol 100 nM hemmte die elektrisch stimulierte Vasopressinfreisetzung um 25 %, während sich mit Flupenthixol 1 μ M kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle ergab (Abb. 5).

Nach Kombination von Flupenthixol mit SKF 82 526 ließ sich folgendes beobachten (Abb. 6):

Flupenthixol 100 nM + SKF 82 526 1 μ M ergab einen Wert S₂/S₁, der im Kontrollbereich lag. Durch Steigerung der Konzentration von Flupenthixol auf 1 μ M wurde die durch SKF 82 526 1 μ M bewirkte Stimulation der Vasopressinfreisetzung antagonisiert. Durch Steigerung der Agonistenkonzentration (SKF 82526 10 μ M + Flupenthixol 1 μ M) ließ sich dieser Effekt wieder aufheben (siehe Abb. 6).

Für SKF 82 526 30 nM + Flupenthixol 100 nM ergab sich: S₂/S₁ = 0,67 $\pm$ 0,03, n = 4 (ohne Abb.). Dieser Wert lag im Kontrollbereich und es ließ sich somit nach Kombination mit dem Antagonisten keine Hemmung der Vasopressinfreisetzung durch SKF 82 526 nM mehr beobachten.

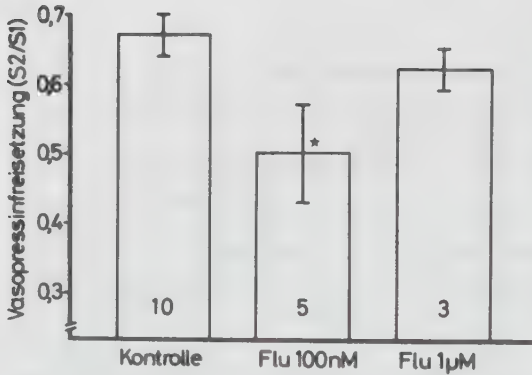


Abb. 5

Einfluß von Flupenthixol (Flu) 100 nM und 1 μ M auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe der Substanz 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als S2/S1.

Mittelwerte $\pm$ $s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikant verschieden vom Kontrollwert ($\alpha < 0,05$)

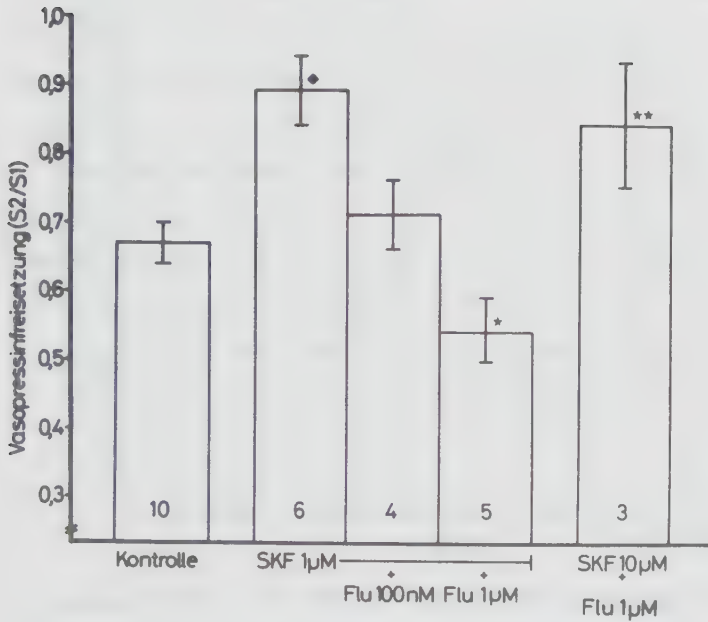


Abb. 6

Einfluß von SKF 82 526 (SKF) in Kombination mit Flupenthixol (Flu) auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe der Substanzen 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als S2/S1. Mittelwerte $\pm$ s $\bar{x}$ von n Versuchen.

◆ Signifikant verschieden vom Kontrollwert ($\alpha < 0,05$)

* Signifikant verschieden vom Wert mit SKF 82 526 1 μ M ($\alpha < 0,05$)

★★ Signifikant verschieden vom Wert mit SKF 82 526 1 μ M + Flupenthixol 1 μ M ($\alpha < 0,05$)

5. SKF 83 742

Der Dopamin-Antagonist SKF 83 742 (Kaiser et. al., 1980) wurde in drei verschiedenen Konzentrationen getestet. Dabei wurden für S2/S1 folgende Werte ermittelt: 10 nM: $0,66 \pm 0,03$ (n = 4); 100 nM: $0,73 \pm 0,07$ (n = 3) und $1 \mu\text{M}$: $0,81 \pm 0,08$ (n = 4). Alle diese Werte lagen im Kontrollbereich; es zeichnete sich also keine Beeinflussung der Vasopressinfreisetzung durch SKF 83 742 ab. Den Effekt von SKF 83 742 in Kombination mit SKF 82 526 zeigt Abb. 7. SKF 83 742 100 nM antagonisierte sowohl den stimulatorischen als auch den inhibitorischen Einfluß von SKF 82 526.

6. GBR 12 921

Da die Ergebnisse der Versuche mit Sulpirid und Flupenthixol auf eine Modulation der Vasopressinfreisetzung durch endogenes Dopamin hingedeutet hatten, wurde der Einfluß von GBR 12 921, einem potenten und selektiven Hemmstoff der Dopaminwiederaufnahme in das Neuron (van der Zee et al., 1980) getestet.

Nach Betrachtung des Mittelwertes der Versuchsergebnisse schien GBR 12 921 100 nM keinen Einfluß auf die Vasopressinfreisetzung zu haben (Abb. 8). Es fiel jedoch auf, daß bei jedem einzelnen Versuch der Quotient S2/S1 von der durch S1 freigesetzten Vasopressinmenge abhängig zu sein schien (Abb. 9). Je geringer die durch S1 freigesetzte

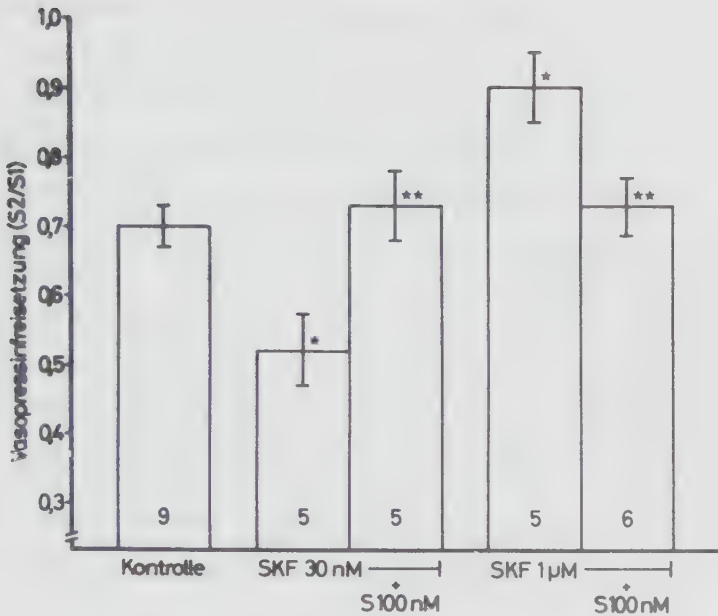


Abb. 7

Einfluß von SKF 82 526 (SKF) in Kombination mit SKF 83 742 (S) 100 nM auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Zwei elektrische Stimulationen im Abstand von 60 min.

Zugabe der Substanzen 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als S2/S1. Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($\alpha < 0,05$)

★★ Signifikanter Unterschied zum entsprechenden Wert, der mit der gleichen Konzentration von SKF 82 526, aber in Abwesenheit von SKF 83 742 beobachtet wurde. ($\alpha < 0,05$)

Vasopressinmenge war, desto größer war $S2/S1$. Es wurde eine lineare Regression berechnet (in Abb. 9 dargestellt). Dabei ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $-0,81$, der den Zusammenhang auch statistisch sicherte ($\alpha < 0,05$). In Abb. 9 ist auch eine Regressionsgerade für eine Gruppe von acht Kontrollversuchen eingezeichnet. Hier bestand kein Zusammenhang zwischen der durch $S1$ freigesetzten Vasopressinmenge und dem Quotienten $S2/S1$.

Es gelang jedoch nicht, einen der beiden durch GBR 12 921 anscheinend möglichen Effekte (Steigerung oder Hemmung der Vasopressinfreisetzung) durch Kombination mit den Antagonisten Sulpirid oder SKF 83 742 isoliert darzustellen (Abb. 8).

7. Guanethidin

Auch mit Guanethidin, einem Hemmstoff der durch Aktionspotentiale ausgelösten Freisetzung von Noradrenalin aus adrenergen Neuronen, wurde versucht, die Freisetzung von endogenem Dopamin zu beeinflussen.

Mit Guanethidin $10 \mu\text{M}$ und 15 min Einwirkzeit vor $S2$ ergab sich: $S2/S1 = 0,63 \pm 0,09$ ($n = 5$). Kontrollgruppe: $S2/S1 = 0,71 \pm 0,04$ ($n = 8$).

8. Naloxon

In früheren Experimenten (Muscholl et al., 1982; Racké et al., 1982 a) war nach TTX-unabhängiger elektrischer Stimulation eine Hemmung der Vasopressinfreisetzung durch Sul-

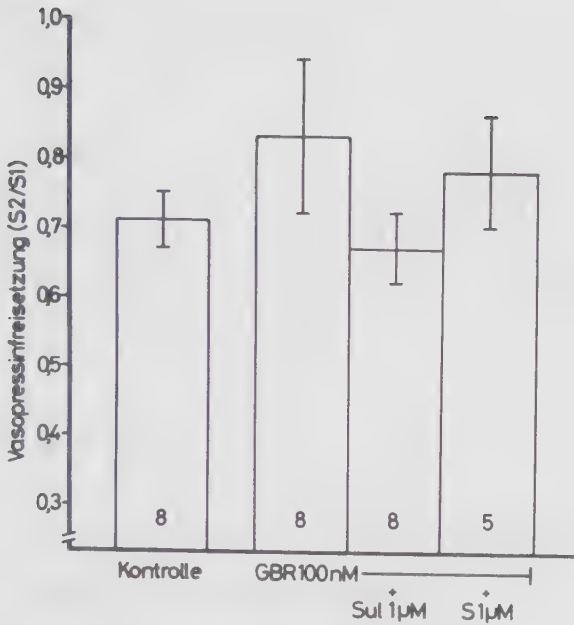


Abb. 8

Einfluß des Hemmstoffes der Dopaminaufnahme GBR 12 921 (GBR) 100 nM allein und in Kombination mit Sulpirid (Sul) 1 µM oder SKF 83 742 (S) 1 µM auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe der Substanzen 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation. Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als Quotient S2/S1. Mittelwerte $\pm$ s_x von n Versuchen.

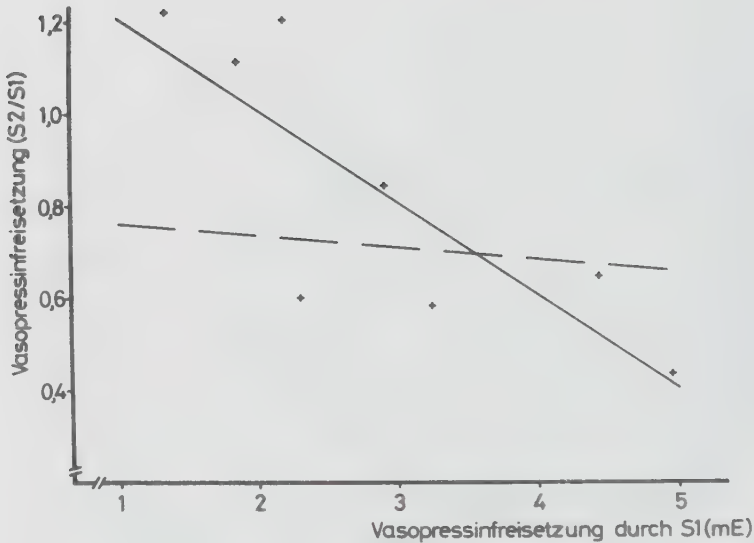


Abb. 9

Abhängigkeit des Effektes von GBR 12 921 auf die Vasopressinfreisetzung (ausgedrückt als Quotient S2/S1) von der durch S1 bewirkten Vasopressinfreisetzung.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe von GBR 12 921 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation. Jeder Punkt steht für einen einzelnen Versuch.

Ununterbrochene Linie: Regressionsgerade, die aus den Einzelwerten errechnet wurde.

Unterbrochene Linie: Regressionsgerade für eine Gruppe von acht Kontrollversuchen.

pirid beobachtet worden. Dieser Effekt konnte durch Naloxon aufgehoben werden. Unter den hier gewählten Reizbedingungen mit TTX-abhängiger elektrischer Stimulation hatte Naloxon keinen Einfluß auf die Vasopressinfreisetzung.

(S2/S1 = $0,77 \pm 0,01$, n = 13; Kontrollgruppe siehe Abb. 4) und veränderte die durch Sulpirid 100 nM bewirkte Steigerung der Vasopressinfreisetzung nicht (S2/S1 = $0,81 \pm 0,06$, n = 3).

C. Versuche mit Neurointermediärlappen männlicher Tiere

I. Allgemeines

Alle Versuche mit Neurointermediärlappen männlicher Tiere wurden mit einer Reizfrequenz von 15 Hz durchgeführt.

(übrige Parameter: siehe "Methoden")

Die durch S1 bewirkte Freisetzung betrug $4,15 \pm 0,18$ mE Vasopressin (n = 43); sie lag signifikant um 20 % höher als die durch S1 bewirkte Freisetzung bei Versuchen mit NIL weiblicher Tiere ($\alpha < 0,001$).

Der Quotient S2/S1 betrug bei den Kontrollversuchen $0,70 \pm 0,06$ (n = 10); somit bestand kein Unterschied zu Kontrollversuchen mit Organen weiblicher Tiere.

II. Modulation der Vasopressinfreisetzung durch Pharmaka

Keine der getesteten Substanzen veränderte die Vasopressinruheabgabe.

1. Bromocriptin

Bromocriptin zeigte den gleichen Effekt wie bei Versuchen mit NIL weiblicher Tiere. Es kam zu einer 38%-igen Hemmung der durch elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung durch Bromocriptin $3 \mu\text{M}$ (Abb. 10).

2. Sulpirid

Anders als bei Versuchen mit NIL weiblicher Tiere steigerte Sulpirid $1 \mu\text{M}$ die Vasopressinfreisetzung nicht. Es kam

zu einer 20%-igen nicht signifikanten Hemmung der Freisetzung des Hormons (Abb. 11).

3. Naloxon

Naloxon $1 \mu\text{M}$ steigerte die Vasopressinfreisetzung. Die Kombination von Naloxon $1 \mu\text{M}$ und Sulpirid $1 \mu\text{M}$ ergab einen Wert S_2/S_1 , der signifikant höher lag als der mit Sulpirid allein beobachtete Wert (Abb. 11).

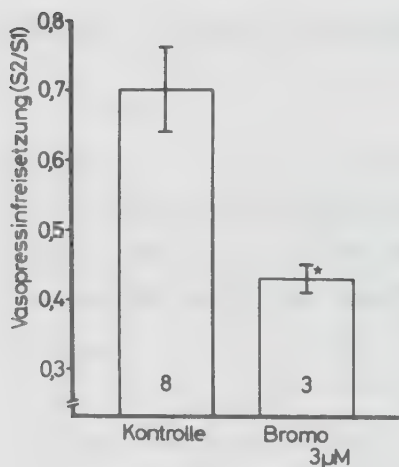


Abb. 10

Einfluß von Bromocriptin (Bromo) 3 µM auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung aus dem NIL männlicher Ratten.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe der Substanz 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als Quotient S2/S1.

Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($\alpha < 0,05$)

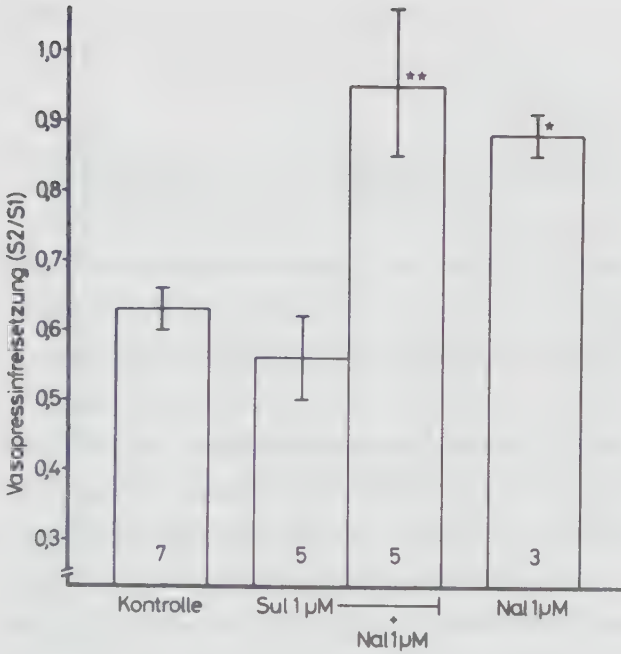


Abb. 11

Einfluß von Sulpirid (Sul) und Naloxon (Nal) auf die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung aus dem NIL männlicher Ratten.

Zwei Stimulationen im Abstand von 60 min. Zugabe der Substanzen 15 min vor Beginn der zweiten Stimulation.

Höhe der Säulen: Vasopressinfreisetzung als Quotient S2/S1.

Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ von n Versuchen.

★ Signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($\alpha < 0,01$)

★★ Signifikanter Unterschied zum mit Sulpirid allein beobachteten Wert ($\alpha < 0,05$)

DISKUSSION

1. Stimulationsverfahren

Verschiedene Beobachtungen sprechen für eine dopaminerge Modulation der Vasopressinfreisetzung (siehe Einleitung). Um möglichst physiologische Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden die sekretorischen Fasern des Neurointermediärlappens (NIL) vom Hypophysenstiel aus durch fortgeleitete Aktionspotentiale (TTX-abhängig) stimuliert. Durch phasische Reizung wurde zudem das Entladungsmuster Vasopressin-neurosekretorischer Zellen nachgeahmt (Wakerley et al., 1978). Dutton und Dyball (1979) zeigten, daß die phasische Stimulation zu einer erhöhten Vasopressinfreisetzung führt. Sie fanden eine gute Korrelation zwischen der Verkürzung der Interimpulsintervalle auf weniger als 100 ms und einer erhöhten Freisetzung des Peptids. Auch Bicknell und Leng (1981) belegten die Effektivität der phasischen Reizung. Sie zeigten aber, daß phasische Stimulation im Vergleich mit kontinuierlicher Stimulation Vasopressin auch dann effektiver freisetzte, wenn beide Reizbedingungen gleiche Interimpulsintervallmuster hatten. Sie schlossen aus ihren Ergebnissen, daß nicht so sehr kurze Interimpulsintervalle sondern vielmehr intermittierende Reize eine effektivere Stimulation bewirkten. Die vorgelegten Befunde mit intermittierender Reizung zeigen, daß bei Steigerung der Frequenz von 10 auf 15 Hz eine Faszilitierung der Vasopressinfreisetzung zu beobachten ist (siehe Tabelle). Sie belegen

somit, daß auch eine Verkürzung des Interimpulsintervalls eine effektivere Vasopressinfreisetzung bewirken kann.

2. Modulation der Vasopressinfreisetzung durch Dopamin-Agonisten und -Antagonisten

Der Dopamin-Agonist SKF 82 526 hemmte im nanomolaren Bereich die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung. Dieser Effekt ließ sich durch Sulpirid aufheben (Abb. 3).

Micromolare Konzentrationen von SKF 82 526 steigerten dagegen die Vasopressinfreisetzung; diese Steigerung ließ sich durch Flupenthixol in einer als kompetitiver Antagonismus zu deutenden Weise aufheben (Abb. 6).

Beide pharmakologischen Beobachtungen sind schwer mit der Existenz nur eines Typs von Dopamin-Rezeptoren zu vereinbaren. Ergebnisse von Bindungsstudien haben mindestens zwei verschiedene Dopamin-Rezeptoren wahrscheinlich gemacht (Kebabian und Calne, 1979; Snyder und Goodman, 1980). Der D₁-Rezeptor ist an die Adenylcyclase gekoppelt und wird durch micromolare Dopaminkonzentrationen erregt. Der D₂-Rezeptor ist nicht an die Adenylcyclase gekoppelt und spricht auf nanomolare Dopaminkonzentrationen an. Das Benzamidderivat Sulpirid (Jenner und Marsden, 1979) ist ein selektiver Antagonist am D₂-Rezeptor. Sulpirid hat vielfach die gleichen zentralnervösen Wirkungen wie andere Dopamin-Antagonisten; so verdrängt es ³H-Haloperidol von Bindungsstellen an Striatummembranen. Es antagonisiert aber nicht die durch

Dopamin oder Apomorphin induzierte Anhäufung von c-AMP in Hirnhomogenaten, in intaktem Striatumgewebe oder im Striatum von Ratten in vivo (Trabucchi et al., 1975; Spano et al., 1979). Flupenthixol ist ein sehr potenter, aber nicht selektiver Antagonist am Adenylcyclase-gekoppelten D1-Rezeptor (Iversen et al., 1976, Cross und Owen, 1980).

Gemäß der erläuterten Klassifikation muß die Hemmung der durch elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung über D2-Rezeptoren erfolgen; denn der Effekt von SKF 82 526 30 nM wird durch den selektiven D2-Antagonisten Sulpirid, nicht aber durch Flupenthixol aufgehoben.

Übereinstimmend mit meinen Ergebnissen hatten Forsling et al. (1981) beobachtet, daß Dopamin 1 μ M und 6,7 ADTN (2-Amino-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphtalin) 1 μ M die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung aus isolierten Rattenneurohypophysen hemmte. Weiterhin hatten Vizi und Volkebas (1980) gezeigt, daß die durch Ouabain 200 μ M bewirkte Vasopressinfreisetzung aus dem gleichen Organ durch Dopamin 100 μ M vermindert wurde. In keiner der beiden Arbeiten war ein Dopamin-Antagonist getestet worden. Im hiesigen Labor wurde eine Hemmung der durch TTX-abhängige elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung durch Bromocriptin und Apomorphin nachgewiesen (Racké et al., 1982 a). Dieser Effekt ließ sich ebenfalls durch Sulpirid antagonisieren. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die die Vasopressinfrei-

setzung steigernde Wirkung von SKF 82 526 durch einen Rezeptor vom D₁-Typ vermittelt wird. SKF 82 526 ist nachgewiesenermaßen ein potenter Agonist am Adenylcyclasegekoppelten Dopamin-Rezeptor (Weinstock et al., 1980). Flupenthixol, welches eine hohe Affinität zum D₁-Rezeptor besitzt - ein selektiver D₁-Antagonist ist zur Zeit noch nicht bekannt (Kebabian und Cote, 1981) - konnte den die Vasopressinfreisetzung steigernden Einfluß von SKF 82 526 antagonisieren (Abb. 6). Es verblüffte, daß auch Sulpirid 100 nM die stimulatorische Wirkung von SKF 82 526 aufhob. Nach Steigerung der Sulpiriddosis auf das Zehnfache war dieser Effekt jedoch nicht mehr vorhanden (Abb. 3), weshalb es sich nicht um einen kompetitiven Antagonismus handeln kann. Vielmehr scheint es, daß der D₂-Rezeptor in Anwesenheit hoher Agonistenkonzentrationen einer raschen Desensibilisierung unterliegt. Niedrige Konzentrationen von Sulpirid (100 nM) scheinen diese Desensibilisierung durch Reduzierung der Agonistenkonzentration am Rezeptor zu verzögern, so daß dann auch bei der hohen Konzentration von SKF 82 526 eine hemmende D₂-Rezeptorenwirkung der Vasopressinfreisetzung steigernden D₁-Rezeptorenwirkung entgegenwirken kann. Hohe Konzentrationen von Sulpirid (1 µM) dürften alle D₂-Rezeptoren blockieren und damit würde der über die D₁-Rezeptoren vermittelte Effekt (Steigerung der Vasopressinfreisetzung) allein zur Wirkung kommen. Diese Interpretation wird durch Beobachtungen von Racké et al. (1982 a) unterstützt. Apomorphin in Konzentrationen von

100 nM bis $1 \mu\text{M}$ hemmte die Vasonressinfreisetzung. Diese Hemmwirkung ging mit Steigerung der Anomorphinkonzentration auf $10 \mu\text{M}$ verloren. Dieser Effekt lässt sich wiederum durch Desensibilisierung des D2-Rezeptors erklären; denn Sulpirid 100 nM antagonisierte die Hemmung durch Anomorphin in niedriger Konzentration (100 nM) und führte dazu, daß Anomorphin jetzt in der hohen Konzentration ($10 \mu\text{M}$) eine Hemmung der Vasonressinfreisetzung bewirkte.

Die Theorie, daß die Vasonressinfreisetzung aus der Neurohypophyse über einen D1-Rezeptor gesteigert wird, wurde durch eine weitere Arbeit aus dem hiesigen Institut unterstützt (Racké et al., 1982 b). Forskolin, ein aus der Wurzel von *Coleus forskohlii* isoliertes Diterpen, aktiviert in intakten Nervengeweben die Adenylcyclase direkt (Seamon et al., 1981). Mit dieser Substanz konnte unter gleichen Versuchsbedingungen eine deutliche Steigerung der Vasonressinfreisetzung beobachtet werden. In der gleichen Arbeit beschriebene Versuche mit Isoprenalalin und Propranolol sprechen für eine Stimulation der Vasonressinfreisetzung durch einen an die Adenylcyclase gekoppelten β -Adrenozentor. Die stimulatorische Wirkung von SKF 82 526 ließ sich nicht durch Propranolol aufheben.

Abb. 12 stellt die Modulation der Vasonressinfreisetzung aus der Neurohypophyse durch D1- und D2-Rezeptoren schematisch dar.

Stoof und Kehanian (1981) fanden, daß die c-AMP-Konzentration im Neostriatum von Ratten durch Stimulation des D1-

Rezeptors erhöht und durch Stimulation des D2-Rezeptors vermindert wurde. Vielleicht ist diese biphasige Regulation der c-AMP-Konzentration der Mechanismus, über den die beiden Dopamin-Rezeptoren entgegengesetzten Einfluß auf die Vasopressinfreisetzung haben.

3. Versuch der Einflußnahme auf endogenes Dopamin

Die Tatsache, daß nach alleiniger Gabe des Dopamin-Antagonisten Sulpirid die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung zu steigern war (Abb. 4) und Flupenthixol nach alleiniger Gabe den entgegengesetzten Effekt zeigte (Abb. 5), war nur durch den Einfluß von endogenem Dopamin zu erklären. Wie spätere Untersuchungen (Holzbauer et. al., 1982) zeigten, wird unter Stimulationsbedingungen, die den bei meinen Versuchen verwendeten ähnlich waren, endogenes Dopamin freigesetzt. Durch GBR 12 921, den Hemmstoff der Wiederaufnahme von Dopamin in das Neuron (van der Zee et al., 1980), ließ sich die reizbedingte Abgabe von Dopamin in das Inkubationsbad um 140 % steigern. Meine Ergebnisse mit GBR 12 921 sind schwer zu interpretieren. Im Vergleich zu Kontrollversuchen konnte die Substanz die Vasopressinfreisetzung nur steigern, wenn die durch S1 bewirkte Vasopressinfreisetzung relativ niedrig lag (Abb. 9). Es ist bekannt, daß der Monoaminoxidase (MAO) bei der Inaktivierung des Dopamins im NIL eine wichtige Rolle zukommt. Durch den MAO-Hemmstoff Pargylin ließ sich die durch GBR 12 921 bewirkte Dopaminfreisetzung auf mehr als das Dop-

pelte steigern (Übersicht bei Holzbauer et al., 1983). Geht man davon aus, daß die MAO den Dopamin-Rezeptoren evtl. vor- oder parallelgeschaltet ist, so ist nach Gabe von GBR 12 921 vielleicht gar keine wesentliche Steigerung der Dopaminkonzentration zu erwarten. Deshalb scheint es erklärbar, daß GBR 12 921 nur bei einigen meiner Versuche (wenn durch S1 relativ wenig Vasopressin freigesetzt wurde) einen Effekt zeigte. Die Höhe der Dopaminkonzentration in der Nähe der Rezeptoren war während der ersten Stimulation eventuell gerade so hoch, daß der D2-Rezeptor erregt und über diesen die Vasopressinfreisetzung maximal gehemmt wurde. Nach Zugabe von GBR 12 921 wurde dann trotz teilweiser MAO-Inaktivierung des Dopamins die Dopaminkonzentration erreicht, die zur Desensibilisierung des D2- und Erregung des D1-Rezeptors führt. Auf diese Weise resultierte dann eine Steigerung der Vasopressinfreisetzung.

Unklar bleibt, wieso sich nach Kombination von GBR 12 921 mit dem D2-Rezeptor-Antagonisten Sulpirid keine Steigerung der Vasopressinfreisetzung beobachten ließ (Abb. 8). Um dies weiter zu untersuchen, wäre es sicher sinnvoll, Versuche durchzuführen, bei denen die MAO beispielsweise durch Pargylin gehemmt würde.

4. Versuche mit Neurointermediärlappen männlicher Tiere

Die Hemmung der durch elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung durch Bromocriptin war an Organen weiblicher (Abb. 2) und männlicher (Abb. 10) Tiere gleich-

chermaßen zu beobachten.

Unterschiede zeigten sich in der Wirkung von Sulpirid. Bei den Versuchen mit NIL männlicher Tiere steigerte Sulpirid die Vasopressinfreisetzung nicht; es deutete sich im Gegenteil eine leichte Hemmung der Freisetzung des Hormons an. Nach Kombination von Sulpirid mit Naloxon war eine Steigerung der Vasopressinfreisetzung zu beobachten (Abb. 11). Ähnliche Beobachtungen waren im gleichen Labor mit NIL weiblicher Ratten und einer TTX-unabhängigen Feldstimulation gemacht worden (Racké et al., 1982 a). Im Intermediärlappen vorhandes β -Endorphin kann über einen Opiat-Rezeptor die Vasopressinfreisetzung aus der Neurohypophyse hemmen (Iversen et al., 1980). Durch TTX-unabhängige Feldstimulation können Endorphinzellen im Zwischenlappen direkt erregt werden. Bei Kontrollversuchen ist keine sehr hohe Freisetzung des Peptids zu erwarten, weil die elektrische Aktivität der Zellen (Douglas und Taraskevich, 1978) und die Freisetzung von β -Endorphin (Vermes et al., 1980) durch Dopamin gehemmt wurden. Die Zugabe eines Dopamin-Antagonisten (z. B. Sulpirid) könnte jedoch die Hemmung der Endorphinfreisetzung durch endogenes Dopamin aufheben. Es resultierte dann eine über einen Opiat-Rezeptor vermittelte Hemmung der Vasopressinfreisetzung.

Die Arbeit von Vermes et al (1980) zeigt auch, daß die Spontanfreisetzung von β -Endorphin nach Zugabe von Dopamin in das Inkubationsmedium abnahm. Deshalb ist zu erwarten, daß auch bei TTX-abhängiger Stimulation, obwohl Zellen im

Zwischenlappen nicht erregt werden, Sulpirid die β -Endorphinfreisetzung steigern und die Vasopressinfreisetzung hemmen sollte. Wenn dieser Effekt bei männlichen Tieren vorhanden wäre, ließe sich auf diese Weise der funktionelle Antagonismus zwischen Sulpirid und dem Opiat-Antagonisten Naloxon erklären (Abb. 11). Diese Theorie wurde durch eine Arbeit von Knebel und Nutto (1983) unterstützt. Die Autoren konnten eine Steigerung der durch TTX-abhängige elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung aus dem NIL der Ratte durch Naloxon nachweisen. Nach Entfernen des Zwischenlappens war dieser Effekt nicht mehr vorhanden. Die Zugabe von Kamel- β -Endorphin führte zu einer Hemmung der Vasopressinfreisetzung, die wiederum durch Naloxon zu antagonisieren war.

Die unterschiedliche Wirkung von Sulpirid bei Versuchen mit NIL männlicher und weiblicher Tiere und die Tatsache, daß bei Versuchen mit NIL weiblicher Tiere die Sulpiridwirkung durch Naloxon nicht zu beeinflussen war (siehe B, II, 8) könnte folgendermaßen erklärt werden: Sowohl die weiblichen als auch die männlichen Tiere waren 6 - 7 Wochen alt. In diesem Alter ist das Vasopressinsystem bereits reif (Krisch, 1980). Das β -Endorphinsystem des Zwischenlappens ist jedoch eventuell noch nicht vollständig entwickelt, da Lee et al. (1980) eine dreifache Steigerung der β -Endorphinkonzentration in der Hypophyse zwischen dem 24. und 60. Lebenstag beobachteten. Am 60. Lebenstag war zumindest die β -Endorphinkonzentration im Mit-

telhirn bei weiblichen Ratten deutlich geringer als bei männlichen. Im gleichen Alter war die β -Endorphinkonzentration in der Hypophyse bei beiden Geschlechtern gleich, wobei jedoch keine speziellen Untersuchungen für den Zwischenlappen angestellt wurden. Vielleicht ist hier das β -Endorphinsystem in der 6. - 7. Lebenswoche bei männlichen Tieren etwas reifer, so daß die Modulation der Sontanfreisetzung durch Dopamin und Dopamin-Antagonisten möglich ist. Demgegenüber ist bei weiblichen Tieren eine zur Hemmung der Vasopressinfreisetzung ausreichende β -Endorphinfreisetzung nur möglich, wenn die Zellen des Zwischenlappens direkt, d. h. durch eine TTX-unabhängige Stimulation gereizt werden.

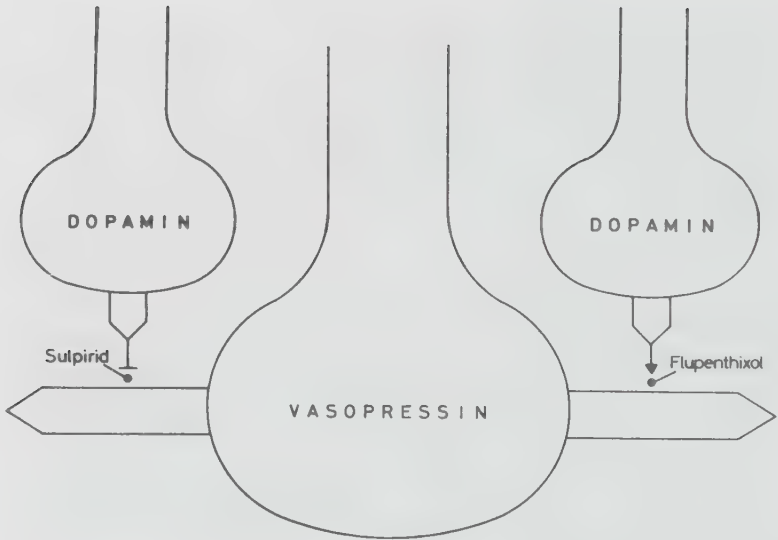


Abb. 12.

Schematische Darstellung der Modulation der Vasopressin-freisetzung durch endogenes Dopamin.

Symbole: $\Rightarrow$ durch elektrische Stimulation bewirkte Freisetzung

$\longrightarrow$ Steigerung der Freisetzung über einen D1-Rezeptor

$\longrightarrow|$ Hemmung der Freisetzung über einen D2-Rezeptor

● spezifischer Antagonismus

ZUSAMMENFASSUNG

1. Von Hypophysen weiblicher Ratten wurde der Neurointermediärkapsel abgetrennt und in Krebslösung inkubiert. Das durch TTX-abhängige Stimulation (80 V; biphasige Impulse von 0,2 ms Dauer; 15 Hz; 10 s Reizphasen gefolgt von 10 s Pause für insgesamt 10 min) in das Inkubationsbad freigesetzte Vasopressin wurde mit einem Radioimmunoassay bestimmt.

2. Der Dopamin-Agonist SKF 82 526 (6-Chlor-7,8-dihydroxy-1-(p-hydroxyphenyl)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzazepin-methansulfonat) konnte die durch Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung konzentrationsabhängig entweder um 29 % vermindern (30 nM) oder um 27 % steigern (1 μ M). Der erste Effekt ließ sich durch Sulpirid, der zweite durch Flupenthixol antagonisieren. Beide Dopamin-Antagonisten wurden auch allein getestet. Sulpirid steigert und Flupenthixol hemmt die durch Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung. Bei einigen Versuchen wurden Neurointermediärkapseln männlicher Tiere verwendet. Hier hemmt Sulpirid die Vasopressinfreisetzung; dieser Effekt ließ sich durch Naloxon aufheben.

Bromocriptin (3 μ M) hemmt die durch elektrische Stimulation bewirkte Vasopressinfreisetzung um 34 %.

Der Dopamin-Antagonist SKF 83 742 (7,8-Dihydroxy-3-methyl-6-phenylthio-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3benzazepin-hydrochlorid) zeigte im Gegensatz zu Sulpirid und Flupenthixol nach

alleiniger Gabe keine Wirkung. SKF 83 742 hob in Kombination mit SKF 82 526 beide durch den Agonisten konzentrationsabhängig vermittelten Effekte (Hemmung und Steigerung der durch elektrische Stimulation bewirkten Vasopressinfreisetzung) auf.

Weder durch eine Hemmung der Aminfreisetzung (mit Guanethidin) noch durch eine Hemmung der Wiederaufnahme von Dopamin in das Neuron (mit GBR 12 921) ließ sich die Vasopressinfreisetzung in eindeutiger Weise modulieren.

3. Meine Beobachtungen weisen auf eine komplexe dopaminerge Modulation der Vasopressinfreisetzung hin und sprechen den in der Neurohypophyse vorkommenden dopaminergen Neuronen eine funktionelle Bedeutung zu. Es ist anzunehmen, daß in der Neurohypophyse zwei verschiedene Typen von Dopamin-Rezeptoren existieren. Der eine hemmt die Vasopressinfreisetzung und wird durch niedrige Konzentrationen von SKF 82 526 oder durch endogenes Dopamin erregt. Da die durch diesen Rezeptor vermittelte Wirkung durch den selektiven D2-Antagonisten Sulpirid blockiert wird, muß es sich gemäß der üblichen Klassifikation um einen D2-Rezeptor handeln. Der zweite Rezeptor vermittelt die Steigerung der Vasopressinfreisetzung. Er wird durch hohe Dosen von SKF 82 526 und durch endogenes Dopamin erregt. Es handelt sich wahrscheinlich um einen D1-Rezeptor, denn der hier wirksame Dopamin-Antagonist Flupenthixol besitzt eine hohe Affinität zu diesem Rezeptortyp.

Es ist anzunehmen, daß bei Versuchen mit Intermediärlappen

männlicher Tiere ein Opioid (wahrscheinlich β -Endorphin) sezerniert wurde, dessen Freisetzung durch Dopamin gehemmt und durch Sulpirid gesteigert wurde. Diese Substanz hemmte ihrerseits die Vasopressinfreisetzung aus der Neurohypophyse über einen Opiatrezeptor.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Ahn, H. S., Feldman, S. C., Makman, M. H. (1979)
Posterior pituitary adenylate cyclase: stimulation by
dopamine and other agents
Brain Res. 166: 422-425
- Alper, R. H., Demarest, K. T., Moore, K. E. (1980)
Dehydration selectively increases dopamine synthesis
in tuberohypophyseal dopaminergic neurons.
Neuroendocrinology 31: 112-115
- Bicknell, R. J., Leng, G. (1981)
Relative efficiency of neural firing patterns for vaso-
pressin release in vitro
Neuroendocrinology 33: 295-299
- Björklund, A., Moore, R. Y., Nobin, A., Steveni, U. (1973)
The organization of tubero-hypophyseal and reticulo-
infundibular catecholamine neuron system in the rat
brain
Brain Res. 51: 171-191
- Bridges, T. E., Hillhouse, E. W., Jones, M. T. (1976)
The effect of dopamine on neurohypophysial hormone
release in vivo and from the rat neural lobe and hypo-
thalamus in vitro
J. Physiol. (Lond.) 260: 647-666

Cronin, M. J., Weiner, R. I. (1979)

[³H]-Spiroperidol (spirone) binding to a putative dopamine receptor in sheep and steer pituitary and stalk median eminence

Endocrinology 104: 307-312

Cross, A. J., Owen, F. (1980)

Characteristics of ³H-cis-flupenthixol binding to calf brain membranes

Europ. J. Pharmacol. 65: 341-347

Douglas, W. W., Poisner, A. M. (1964 a)

Stimulus-secretion coupling in a neurosecretory organ: the role of calcium in the release of vasopressin from the neurohypophysis

J. Physiol. (Lond.) 172: 1-18

Douglas, W. W., Poisner, A. M. (1964 b)

Calcium movement in the neurohypophysis of the rat and its relation to the release of vasopressin

J. Physiol. (Lond.) 172: 19-30

Douglas, W. W., Taraskevich, P. S. (1978)

Action potentials in gland cells of rat pituitary pars intermedia: Inhibition by dopamine, an inhibitor of MSH secretion

J. Physiol. (Lond.) 285: 171-184

Dunnett, C. W. (1964)

New tables for multiple comparisons with a control
Biometrics 20: 482-491

Dutton, A., Dyball, R. E. J. (1979)

Phasic firing enhances vasopressin release from the
rat neurohypophysis.

J. Physiol. (Lond.) 290: 433-440

Fisher, A. W. F., Price, P. G., Burford, G. D., Lederis,
K. (1979)

A 3-dimensional reconstruction of the hypothalamo-
neurohypophysial system of the rat

Cell Tiss. Res. 204: 343-354

Forsling, M. L., Lightman, S. L. (1979)

Effect of L-Dopa on vasopressin secretion in man

J. Physiol. (Lond.) 292: 64P-65P

Forsling, M. L., Iversen, L. L., Lightman, S. L. (1981)

Dopamine and enkephalin directly inhibit vasopressin
release from the neurohypophysis.

J. Physiol. (Lond.) 319: 66P

Goldberg, L. I., Volkman, P. H., Kohli, J. D. (1978)

A comparison of the vascular dopamine receptor with
other dopamine receptors

Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 18: 57-79

Hisada, S., Fujimoto, S., Kamiya, T., Endo, Y., Tsushima,
H. (1977)

Antidiuresis of centrally administered amines and peptides and release of antidiuretic hormone from isolated neurohypophysis

Japn. J. Pharmacol. 27: 153-161

Holzbauer, M., Sharman, D. F., Godden, U. (1978)

Observations on the function of the dopaminergic nerves innervating the pituitary gland

Neuroscience 3: 1251-1262

Holzbauer, M., Sharman, D. F., Godden, U., Mann, S. P., Stephens, D. B. (1980)

Effect of water and salt intake on pituitary catecholamines in the rat and domestic pig

Neuroscience 5: 1959-1968

Holzbauer, M., Muscholl, E., Racké, K., Sharman, D. F. (1982)

Release of endogenous dopamine from single neurointermediate lobes of the rat hypophysis in vitro following electrical stimulation of the stalk

J. Physiol. (Lond.) 332: 88P-89P

Holzbauer, M., Muscholl E., Racké, K., Sharmann D. F. (1983)

Evidence that dopamine is a neurotransmitter in the neuro-intermediate lobe of the hypophysis

Prog. Brain. Res., in press

Husain, M. K., Fernando, N., Shapiro, N., Kagan, A.,
Glick, S. M. (1973)

Radioimmunoassay of arginine vasopressin in human
plasma

J. Clin. Endocrinol. Metab. 37: 616-625

Iversen, L. L., Rogawski, M. A., Miller, R. J. (1976)

Comparison of the effects of neuroleptic drugs on
pre- and postsynaptic dopaminergic mechanisms in the
rat striatum

Mol. Pharmacol. 12: 251-262

Iversen, L. L., Iversen, S. D., Bloom, F. E. (1980)

Opiate receptors influence vasopressin release from
nerve terminals in rat neurohypophysis.

Nature 284: 350-351

Jenner, P., Marsden, C. D. (1979)

The substituted benzamides - a novel class of dopamine
antagonists

Life Sci. 25: 479-486

Kaiser, C., Ali, F. E., Bondinell, W. E., Brenner, M.,
Holden, K. G., Ku, T. W., Oh, H. J., Ross, S. T., Yim,
N. C. F., Zirkle, C. L., Hahn, R. A., Sarau, H. M.,
Setler, P. E., Wardell, J. E. (1980)

6-(Phenylthio)-substituted 2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-
benzazepines, a novel class of dopamine receptor ant-
agonists and neuroleptics

- J. Med. Chem. 23: 975-976
- Kebabian, J. W., Calne, D. B. (1979)
Multiple receptors for dopamine
Nature 277: 93-96
- Kebabian, J. W., Cote, T. E. (1981)
Dopamine receptors and cyclic AMP: a decade of progress
Trends Pharm. Sci. 2: 69-71
- Kendler, K. S., Weitzmann, R. E., Rubin, R. T. (1978)
Lack of arginine vasopressin response to central
dopamine blockade in normal adults
J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 204-207
- Knepel, W., Nutto, D. (1983)
Pituitary opiates reduce vasopressin release from rat
neurohypophysis in vitro
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., suppl. 322: R83
- Krisch, B. (1980)
Electron microscopic immunocytochemical investigation
on the postnatal development of the vasopressin system
in the rat
Cell Tiss. Res. 205: 453-471
- Lee, S., Panerai, A. E., Bellabarba, D., Friesen, H. G.
(1980)
Effect of endocrine modifications and pharmacological
treatments on brain and pituitary concentrations of

β -endorphin

Endocrinology 107: 245-248

Muscholl, E., Racké, K., Ritzel, H., Trapp, B. (1982)

Dopaminergic modulation of evoked vasopressin release from the isolated neurohypophysis and involvement of endogenous opioids

Brit. J. Pharmacol. 75: 159P

Poulain, D. A., Wakerley, J. B. (1982)

Electrophysiology of hypothalamic magnocellular neurones secreting oxytocin and vasopressin

Neuroscience 7: 773-808

Racké, K., Ritzel, H., Trapp, B., Muscholl, E. (1982 a)

Dopaminergic modulation of evoked vasopressin release from the isolated neurohypophysis of the rat. Possible involvement of endogenous opioids

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 319: 56-65

Racké, K., Rothländer, M., Muscholl, E. (1982 b)

Isoprenalin and forskolin increase evoked vasopressin release from rat pituitary.

Europ. J. Pharmacol. 82: 97-100

Saavedra, J. M., Palkovits, M., Kizer, J. S., Brownstein, M., Zivin, J. A. (1975)

Distribution of biogenic amines and related enzymes in the rat pituitary gland

J. Neurochem. 25: 257-260

Seamon, K. B., Padgett, W., Daly, J. W. (1981)

Forskolin: Unique diterpene activator of adenylate cyclase in membranes and in intact cells

Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 78: 3363-3367

Snyder, S. H., Goodman, R. R. (1980)

Multiple neurotransmitter receptors

J. Neurochem. 35: 5-15

Spano, P. F., Stefanini, E., Trabucchi, M., Fresia, P.
(1979)

Stereospecific interaction of sulpiride with striatal and nonstriatal dopamine receptors

In: Spano, P. F., Trabucchi, M., Corsini, G. U., Gessa, G. L. (eds)

Sulpiride and other benzamides. Experimental and clinical pharmacology

Raven Press, New York, pp 11-31

Stefanini, E., Devoto, P., Marchisio, A. M., Vernaleone, F., Collu, R. (1980)

[³H]-Spiroperidol binding to a putative dopaminergic receptor in rat pituitary gland

Life Sci. 26: 583-587

Stoof, J. C., Kebabian, J. W. (1981)

Opposing roles for D1- and D2- dopamine receptors in

efflux of cyclic AMP from rat neostriatum

Nature 294: 366-368

Trabucchi, M., Longoni, R., Fresia, P., Spano, P. F.

(1975)

Sulpiride: a study of the effects on dopamine receptors
in rat neostriatum and limbic forebrain

Life Sci. 17: 1551-1556

Vermes, I., Mulder, G. H., Smelik, P. G., Tilders, F. J.

H. (1980)

Differential control of β -endorphin/ β -lipotropin secretion
from anterior and intermediate lobes of the rat
pituitary gland in vitro

Life Sci. 27: 1761-1768

Vizi, E. S., Volkebas, V. (1980)

Disinhibitory role of endorphins/enkephalins in the
release of oxytocin and vasopressin controlled by
dopamine: effects on axon terminals

In: Marsden, C.A., Traczyk, W. Z. (eds)

Neuropeptides and neural transmission

Raven Press, New York, pp 257-270

Wagner, H., Häberle, H., Maier, V., Lang, R. E. (1978)

Transmitter mediated arginine vasopressin release from
superfused hypothalamus and pituitary gland

J. Endocrinol. Invest. 1: 215-220

Wakerley, J. B., Poulain, D. A., Brown, D. (1978)

Comparision of firing patterns in oxytocin- and vasopressin-releasing neurons during progressive dehydration

Brain Res. 148: 425-440

Weber, E. (1964)

Zahl der Freiheitsgrade und Zufallshöchstwerte des Korrelationskoeffizienten

In: Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner

5. Auflage, Fischer, Jena, p 535, Tafel 11

Weinstock, J., Wilson, J. W., Ladd, D. L., Brush, C. K., Pfeiffer, F. R., Kuo, G. Y., Holden, K. G., Yim, N. C. F., Hahn, R. A., Wardell, J. R., Tobia, A. J., Setler, P. E., Sarau, H. M., Ridley, P. T. (1980)

Separation of potent central and renal dopamine agonist activity in substituted 6-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-7,8-dihydroxy-1-phenyl-1H-3-benzazepines

J. Med. Chem. 23: 973-975

Wolny, H. L., Plech, A., Herman, Z. S. (1974)

Diuretic effects of intraventricularly injected noradrenaline and dopamine in rats

Experientia 30: 1062-1063

van der Zee, P., Koger, H. S., Gootjes, J., Hespe, W. (1980)

Aryl-1,4-dialk(en)ylpiperazines as selective and very
potent inhibitors of dopamine uptake

Eur. J. Med. Chem. 15: 363-370

Herrn Prof. Dr. E. Muscholl danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Beratung bei der Abfassung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. K. Racké für die Einweisung in die praktische Laborarbeit und die Hilfe und Beratung bei der Versuchsdurchführung.

L E B E N S L A U F

Ich wurde am 4. 5. 1957 in St. Ingbert/Saar als Sohn des Erwin Trapp, heute Rektor an einer Grundschule, und seiner Ehefrau Helga geboren.

Im Frühjahr 1964 trat ich in die Grundschule, Schiller-schule St. Ingbert, ein und wechselte im Herbst 1967 auf das Staatliche Realgymnasium St. Ingbert, heute Leibniz-Gymnasium. Im Mai 1976 legte ich die Reifeprüfung ab.

Zu Beginn des Sommersemesters 1977 begann ich das Medizin-studium an der Ruprecht Karls-Universität Heidelberg. Im März 1979 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und im März 1980 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

Zu Beginn des Sommersemesters 1980 wechselte ich auf die Johannes Gutenberg-Universität Mainz und zu Beginn des Sommersemesters 1982 auf die Johann Wolfgang v. Goethe-Universität Frankfurt. Im August 1982 legte ich den zwei-ten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab.

Nach Beendigung des Praktischen Jahres am St. Markus-Kran-kenhaus Frankfurt steht im Oktober 1983 der dritte Ab-schnitt der Ärztlichen Prüfung an.

